

**THE EFFECT OF ENTOMOPATHOGENIC
FUNGUS *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* ON
FLIGHT MUSCLES IN THE DESERT LOCUST,
Schistocerca gregaria (Forskal)**

By

ELSAYED SOLTAN MOHAMAD MOHAMAD
B.Sc. Agric. Sci. (Entomology), Fac. Agric., Zagazig Univ., Egypt, 2004.

THESIS

**Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of**

MASTER OF SCIENCE

In

**Agricultural Sciences
(Entomology)**

**Department of Entomology and Pesticides
Faculty of Agriculture
Cairo University
EGYPT**

2009

SUPERVISION SHEET

THE EFFECT OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* ON FLIGHT MUSCLES IN THE DESERT LOCUST, *Schistocerca gregaria* (Forskal)

M. Sc. Thesis
By

ELSAYED SOLTAN MOHAMAD MOHAMAD
B.Sc. Agric. Sci. (Entomology), Fac. Agric., Zagazig Univ., Egypt, 2004.

SUPERVISION COMMITTEE

Dr. MOHAMAD AHMAD AHMAD EID
Professor of Entomology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. GAMAL HASSAN SEWIFY
Professor of Entomology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. THARAWAT ABDEL-MONAIM ABDEL-FATTAH
Senior Researcher of Locust and Grasshopper, Plant Protection
Research Institute, ARC, Giza

تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*
الممرض للحشرات على عضلات طيران الجراد الصحراوى
Schistocerca gregaria (Forskal)

رسالة ماجستير
في العلوم الزراعية
(حشرات)

مقدمه من

السيد سلطان محمد محمد

بكالوريوس في العلوم الزراعية (حشرات) - كلية الزراعة - جامعة الزقازيق، ٢٠٠٤

لجنة إجازة الرسالة:

د. فادية عبد القوى الزغبي
أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة الإسكندرية

د. ابتسام عبدالمنعم حميدة
أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة القاهرة

د. جمال الدين حسن سويفي
أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة القاهرة

د. محمد أحمد أحمد عيد
أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة القاهرة

DEDICATION

*To my Father, who kindly
guide me in my life*

Q

*To my Mother for their patience and
help, as well as to brothers Atef and
Abdel-Salam, my sisters Salma and Sahar
and my friends for all the support they
sincerely offered*

ACKNOWLEDGEMENT

I wish to express my sincere thanks, deepest gratitude and appreciation to Dr. Mohamad Ahmad Ahmad Eid and Dr. Gamal Hassan Sewify Professors of Entomology, Faculty of Agriculture, Cairo University for suggesting the problem, supervision, continued assistance and their guidance through the course of study and revision the manuscript of this thesis. Sincere thanks to Dr. Tharawat Abdel-Monaim Abdel-Fattah Senior Researcher of Department of Locust and Grasshopper, Protect Plant Research Institute, Agricultural Research Center for sharing in supervision. I would like to thank Dr. Hanan Mohamed Hamada Abdel-Samad Lecturer of Entomology, Faculty of Agriculture, Cairo University for helping me in writing and revising the manuscript of this thesis

Grateful appreciation is also extended to all staff members of Entomology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University.

APPROVAL SHEET

THE EFFECT OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* ON FLIGHT MUSCLES IN THE DESERT LOCUST, *Schistocerca gregaria* (Forskal)

M. Sc. Thesis
By

ELSAYED SOLTAN MOHAMAD MOHAMAD
B.Sc. Agric. Sci. (Entomology), Fac. Agric., Zagazig Univ., Egypt, 2004.

Approved by:

Dr. FADIA ABD EL-KAWY EL-ZOGHBY
Professor of Economic Entomology, Fac. Agric., Alexandria University

Dr. IBTISAM ABDEL-MONEM HEMEIDA
Professor of Economic Entomology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. GAMAL HASSAN SEWIFY
Professor of Economic Entomology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. MOHAMAD AHMAD AHMAD EID
Professor of Economic Entomology, Fac. Agric., Cairo University

Date: / /

Name of Candidate: Elsayed Soltan Mohamad Mohamad **Degree: M. Sc.**
Title of Thesis: The Effect of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* on Flight Muscles in the Desert Locust, *Schistocerca gregaria* (Forskal)
Supervisors: Dr. Mohamad Ahmad Ahmad Eid, Dr. Gamal Hassan Sewify and Dr. Tharawat Abdel-Monaim Abdel-Fattah
Department: Entomology and Pesticides
Branch: Entomology **Approval:** / /

ABSTRACT

Desert locusts *Schistocerca gregaria* (Forskal) are one of the major pests of crops worldwide. The desert locust is susceptible to the insect pathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*.

The effect of infecting the flight muscles of adult desert locust *S. gregaria* with the entomopathogenic fungus *M. anisopliae* var. *acridum* was studied. The results showed that the fungal spores germinated on the cuticle and penetrated the flight muscles 24 hrs after infection.

The histopathological studies of the treated muscles with the fungus showed that the nucleus of treated insects flight muscles appeared to be damaged and irregular in shape. Mitochondria are clustered and some mitochondria are irregular in shape. Myofibrils were less distinct, I and A-bands were less defined and Z-line was diffused and indistinct. Some vacuoles formed with different shapes and sizes were highly deformed 48 and 72 hrs after fungal infection.

The activity of trehalase increased during the first two days after the treatment then, significantly decreased on the third day. Lactate dehydrogenase activity was always lower in the mycosed insects.

The effect of entomopathogenic fungus *M. anisopliae* var. *acridum* on flight muscles by electron microscope studies and enzymes activity explain the reduction in flight process of desert locust.

Keywords: *Schistocerca gregaria*, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, Flight muscles, Electron Microscope, Trehalase, Lactate dehydrogenase

استمارة معلومات الرسائل التي تمت مناقشتها

القسم : الحشرات الإقتصادية والمبيدات الكلية / المعهد : الزراعة

دكتوراه

ماجستير

١ - الدرجة العلمية :

٢ - بيانات الرسالة :

عنوان الرسالة باللغة العربية :

تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* الممرض للحشرات على عضلات طيران الجراد الصحراوي (*Schistocerca gregaria* (Forskål)

عنوان الرسالة باللغة الأجنبية :

The Effect of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* on Flight Muscles in the Desert Locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål)

التخصص الدقيق : حشرات

تاريخ المناقشة : ٦ / ٥ / ٢٠٠٩ م

٣ - بيانات الطالب :

الاسم : السيد سلطان محمد محمد الجنسية : مصرى النوع : ذكر

العنوان : كفر المسلمين - مركز الحسينية - الشرقية رقم التليفون : ٠١٨٢٦٦١٧٣٨

جهة العمل : معهد بحوث وقاية النباتات - مركز البحوث الزراعية

البريد الإلكتروني : elssmohamed@yahoo.com رقم الفاكس :

٤ - المشرفون على الرسالة :

الجامعة

الكلية

القسم

الاسم

١- أ.د/ محمد أحمد أحمد عيد - أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة القاهرة

٢- أ.د/ جمال الدين حسن سويفي - أستاذ الحشرات الإقتصادية - كلية الزراعة - جامعة القاهرة

٣- د/ ثروت عبد المنعم عبد الفتاح- باحث أول الجراد والنطاط- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية

٥ - مستخلص الرسالة (Abstract)

٥ - ١ باللغة العربية :

توضح الدراسة تأثير إصابة عضلات طيران الحشرات الكاملة للجراد الصحراوي بالمرض الحشري *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* حيث يحدث إنبات لجراثيم الفطر على جدار الجسم بعد 24 ساعة من الإصابة واختراقه لعضلات الطيران وحدوث تلف بها. وقد أوضحت الدراسات الهستولوجية للعضلات المصابة وجود تشوه في أنوية عضلات الطيران للحشرات المصابة. فظهر تجمع الميتوكندريا بشكل غير منظم. وتبدو الألياف العضلية أقل وضوحاً. وكان للفطر الممرض تأثير على نشاط إنزيم التريهالاز. كذلك انخفض نشاط إنزيم اللاكتات ديبيهيدروجينز في الحشرات المعاملة مقارنة بالغير معاملة.

(الكلمات الدالة : الجراد الصحراوي، الفطر الممرض للجراد، عضلات الطيران، الميكروسكوب الإلكتروني، تريهالاز و لاكتات ديبيهيدروجينز.)

The effect of infecting the flight muscles of adult desert locust *S. gregaria* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* was studied. The results showed that the fungal spores germinated on the cuticle and penetrated the flight muscles 24 hrs after infection. The histopathological studies of the treated muscles with the fungus showed that the nucleus of treated insects flight muscles appeared to be damaged and irregular in shape. Mitochondria are clustered and some mitochondria are irregular in shape. Myofibrils were less distinct. The activity of trehalase increased during the first two days after the treatment. Lactate dehydrogenase activity was always lower in the mycosed insects.

(**Key Words :** *Schistocerca gregaria*, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, Flight muscles, Electron Microscope, Trehalase, Lactate dehydrogenase)

٦ - أهم النتائج التطبيقية التي تم التوصل إليها :

٦ - ١ وقد أوضحت النتائج حدوث إنبات للجراثيم على جدار الجسم واحتراقه لعضلات الطيران بعد 24 ساعة من المعاملة وهو ميسليوم الفطر بعد 48 ساعة من المعاملة.

٦ - ٢ وقد أظهر الفحص بإستخدام الميكروسكوب الإلكتروني المجسم حدوث تلف واضح في العضلات المعاملة بالفطر مقارنة بالعضلات غير المعاملة زادت بعد 48 و 72 ساعة من المعاملة.

٦ - ٣ وقد أظهرت الدراسات الكيميائية تأثير الفطر المرض للحشرات على زيادة نشاط إنزيم التريهالازيل اليمين الأولين بعد المعاملة ثم انخفاض معنوي اليوم الثالث. والذي يؤدي إلى حدوث خلل في إمداد عضلات الطيران بالطاقة اللازمة لعملية الطيران.

٦ - ٤ وكان نشاط إنزيم اللاكتات ديهيدروجينز أقل دائمًا في الحشرات المعاملة عنه في الحشرات غير المعاملة مما يؤدي إلى خلل في وظيفة العضلات أثناء الطيران.

٧ - ما هي الجهات التي يمكن أن تستفيد من هذا البحث :

٧ - ١ وزارة الزراعة ومنظمة الأغذية والزراعة (استخدام الفطريات الممرضة للحشرات في المكافحة للجراد وقائيا في أماكن التكاثر وأكثر أمانا للبيئة)

٧ - ٢ البحث العلمي (هذه الدراسة فتحت مجال جديد في البحث من حيث تأثير الفطر على ميكانيكية الطيران للجراد الصحراوي)

لا

نعم

٨ - هل توجد علاقة قائمة بإحدى هذا الجهات :

في حالة نعم اذكر هذه الجهات :

٨ - ١ كلية الزراعة - جامعة القاهرة

٨ - ٢ منظمة الأغذية والزراعة

٨ - ٣ مركز البحوث الزراعية

ما هي طبيعة العلاقة :

مشروع بحثي

تعاون أكاديمي

(

_____ (اذكر ما هي :

(

_____ (تذكر

مشروع ممول من جهة ثالثة

أخرى

٩ - هل تواافق على التعاون مع جهات مستفيدة من خلال الجامعة :

(

لا
نعم

(I) لتطبيق البحث :

(II) لاستكمال البحث :

(

(تذكر

(ج) أخرى

١٠ - هل تم نشر بحوث مستخرجة من الرسالة في مجلات أو مؤتمرات علمية

١٠ - ١ - مجلة العلوم الزراعية - كلية الزراعة - جامعة المنصورة بتاريخ مارس ٢٠٠٩

١١ - هل سبق التقدم لتسجيل براءات اختراع (تذكر مع الجهة و المكان و التاريخ)

لا

١٢ - هل تواافق على إعطاء البيانات المذكورة في هذه الاستماراة لجهات أخرى

لا

نعم

توقيع المشرفين :

توقيع الطالب :

-

-

-

-

التاريخ

وكيل الكلية (المعهد) للدراسات العليا و البحث :

الدرجة: الماجستير

اسم الطالب: السيد سلطان محمد محمد

عنوان الرسالة: تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* المرض للحشرات على عضلات طيران الجراد الصحراوى
Schistocerca gregaria (Forskal)

المشرفون : الدكتور : محمد أحمد أحمد عيد

الدكتور : جمال الدين حسن سويفي

الدكتور : ثروت عبد المنعم عبد الفتاح

قسم: الحشرات الإقتصادية والمبيدات

تاريخ منح الدرجة: / /

فرع: الحشرات الإقتصادية

المستخلص العربي

يعتبر الجراد الصحراوى واحد من أهم الآفات الحشرية التى تصيب مختلف المحاصيل الزراعية على مستوى العالم. ويُظهر الجراد حساسية للإصابة بالمرض الحشري *Metarhizium anisopliae* var.

acridum والذى يستخدم تطبيقياً على نطاق واسع لمكافحة الجراد. وتوضح الدراسة الحالية تأثير إصابة عضلات طيران الحشرات الكاملة للجراد الصحراوى بالمرض الحشري. وتنظر النتائج كيفية تأثير الفطر المرض على عضلات الطيران لحشرة الجراد الصحراوى حيث يحدث إنبات لجرا ثم الفطر على جدار الجسم بعد 24 ساعة من الإصابة واختراقه لعضلات الطيران وحدوث تلف بها.

وقد أوضحت الدراسات الهستولوجية للعضلات المصابة وجود تشوّه في أنوية عضلات الطيران للحشرات المصابة. فظهر تجمع الميتوكندريا بشكل غير منتظم وتبعد الألياف العضلية أقل وضوحاً، A, I-bands تحديداً وكان Z-line منفصل وغير واضح. وتكون فجوات بأشكال مختلفة وتشوهات كبيرة بعد 48 و 72 ساعة من الإصابة.

وكان للفطر المرض تأثير على نشاط إنزيم التريهالاز فى اليوم الأول والثانى من حدوث العدوى بالفطر حيث زاد نشاط الإنزيم ثم انخفض نشاط الإنزيم فى اليوم الثالث من المعاملة. كذلك انخفض نشاط إنزيم اللاكتات ديهيدروجينز فى الحشرات المعاملة مقارنة بالغير معاملة.

وتوضح الدراسة مدى تأثير الفطر على عضلات الطيران لحشرات الجراد الصحراوى.

الكلمات الدالة: الجراد الصحراوى، الفطر المرض للجراد، عضلات الطيران، الميكروسكوب الإلكتروني، تريهالاز، لاكتات ديهيدروجينز.

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION.....	1
REVIEW OF LITERATURE.....	3
1. Importance of the desert locust.....	3
2. Biological control of locusts using entomopathogenic fungi.....	5
3. Mode of action of the entomopathogenic fungi	10
4. Germination and penetration.....	11
5. Effect of temperature and humidity on entomopathogenic fungi and behavioral thermoregulation in locust.....	14
6. Movement of the wings and flight.....	16
7. Muscle structure.....	18
8. Conversion of energy.....	19
9. Histological studies on <i>S. gregaria</i> flight muscles.....	21
10. Studies on the activity of trehalase.....	22
11. Lactate dehydrogenase.....	26
MATERIALS AND METHODS.....	30
1. Test insects.....	30
2. Fungal inoculum.....	31
3. Scanning electron microscope examination.....	31
4. Transmission electron microscope examination.....	32
5. Estimation of trehalase activity.....	33
6. Preparation of standard curve of glucose.....	34
7. Estimation of lactate dehydrogenase activity.....	34
8 . Statistical analysis.....	35
RESULTS	36
1. Scanning electron microscope (SEM) examination.....	36
2. Histopathological effects of entomopathogenic fungus <i>M. anisopliae</i> var. <i>acridum</i> on flight muscles of adult <i>S. gregaria</i>	37